Archive of SID

مجله‌ی علمی، پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان
دوره‌ی ۱۹، شماره‌ی ۷۷، زمستان ۱۳۹۰، صفحات ۴۱ تا ۵۲

مقایسه‌ی خواص چلاتینگ یون آهن، رادیکال‌زدایی و ضد تیروسینازی اسانس آویشن دنایی با آویشن تجاری و تیمول

مهدی داداش پور[۱]، دکتر ایرج رسولی[۲]، دکتر فاطمه سفیدکن[۳]، دکتر مسعود تقی‌زاده[۴]، شکیبا درویش علیپور آستانه[۵]

نویسنده‌ی مسؤول: تهران، دانشگاه شاهد، دانشکده‌ی علوم پایه rasooli@shahed.ac.ir

دریافت: ۸۹/۹/۷ پذیرش: ۸۹/۱۲/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: *استفاده از گیاهان به عنوان آنتی اکسیدان در فرآوری‌های غذایی، امیدی برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک است. در این تحقیق برخی جنبه‌های بیولوژیک اسانس‌های آویشن دنایی، آویشن تجاری و تیمول که تاکنون مورد مطالعه و بررسی قرار نگرفته، بررسی و مقایسه گردید.*

روش بررسی: *فعالیت چلاتینگ یون آهن با اضافه کردن اسید سولفوریک رقیق و فروزین به اسانس با جذب نوری سنجیده شد. خواص آنتی‌اکسیدانی با بتا کاروتین زدایی و بازدارندگی دیفنیل پیکریل هیدرازیل، قدرت احیای فریک با استفاده از $FeCl_3$، رادیکال زدایی سوپر اکساید با استفاده از زنتاین اکسیداز و ثبت جذب نوری و خاصیت ضد تیروسینازی با روش دوپاکروم و $L\text{-}DOPA$ به عنوان سوبسترا سنجیده شد.*

یافته‌ها: *قدرت چلاتینگ یون فروس اسانس آویشن دنایی وابسته به دوز و فعالیت رادیکال زدایی سوپر اکساید آنیونی آن بیشتر از اسانس تجاری بود. بازدارندگی پراکسیداسیون لیپید به‌وسیله اسانس آویشن دنایی قوی و توسط اسانس تجاری و تیمول تقریبا یکسان بود. در صد بازدارندگی دیفنیل پیکریل هیدرازیل به‌وسیله اسانس آویشن دنایی قوی و بیشتر از ترولوکس، بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن و آنیسول بود. آویشن دنایی قدرت احیای فریک بیشتری داشت. فنل کل اسانس‌ها و مقدار IC_{50} برای فعالیت ضد تیروسینازی تعیین شد.*

نتیجه‌گیری: *نتایج نشان دهنده‌ی ارزش غذایی این گونه گیاهان در پیشگیری از تشکیل محصولات سمی واکنش‌گر بوده، آویشن می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان خوب عمل کند. مطالعه‌ی خواص بیولوژیک اسانس آویشن دنایی نشان می‌دهد که قابلیت خوبی برای بررسی کاربرد آن در صنعت غذا و دارو دارد.*

واژگان کلیدی: چلاتینگ، آنتی‌اکسیدان، رادیکال زدایی سوپر اکساید آنیونی، ضد تیروسینازی، روغن‌های اسانسی، آویشن

مقدمه

از زمان‌های قدیم گیاهان و چاشنی‌ها برای بهبود طعم و عطر به انواع مختلف غذاها اضافه می‌شدند. بسیاری از ترکیبات طبیعی به‌دست آمده از گیاهان دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های زیستی هستند. ترکیبات شیمیایی در خواص

۱- دانشجوی دوره کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی
۲- دکترای تخصصی میکروبیولوژی، استاد میکروبیولوژی دانشگاه شاهد، تهران
۳- دکترای شیمی، استاد موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران
۴- دکترای شیمی، استادیار شیمی دانشگاه شاهد، تهران
۵- دانشجوی دکترای میکروبیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران

www.SID.ir

Archive of SID

بیولوژیک اسانس‌ها تاثیر دارند. اکسیژن و نیتروژن واکنش دهنده‌ی رادیکالی (ROS/RNS) به‌طور مداوم در بدن انسان تولید می‌شوند و توسط آنزیم‌های داخلی مانند سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز، کنترل می‌شوند. زمانی که تولید این رادیکال‌ها بیش از حد باشد، سوبستراها در معرض اکسیداسیون قرار می‌گیرند، مکانیسم‌های دفاعی بدن ناتوان می‌شوند و تخریب مولکول‌ها زیستی (DNA، لیپید، پروتئین) اتفاق می‌افتد (۱). برخی آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از خطر اکسیداتیو توسط اکسیژن و نیتروژن واکنش دهنده، بروز بیماری‌های خاص مثل سرطان و روند پیری جلوگیری کنند. آن‌ها می‌توانند از طریق فرآیند اکسیداسیون، واکنش با رادیکال‌های آزاد، کلاته کردن فلزات و همچنین واکنش به عنوان رادیکال زداینده‌ی اکسیژن، مداخله کنند (۱). هنگامی که تولید اکسیژن و نیتروژن واکنش دهنده بیشتر شد، مواجهه با مواد اکسیدان خارجی یا فقدان مکانیسم دفاعی، آسیب به بیوملکول‌های ارزشمند مانند DNA و لیپیدها و پروتئین‌ها اجتناب ناپذیر است (۲). آنتی اکسیدان‌ها با واکنش با رادیکال‌های آزاد و کلاتینگ فلزات کاتالیتیک و فعالیت به‌عنوان رباینده‌گان اکسیژن در فرآیند اکسیداسیون مداخله می‌کنند (۳). تحقیقات اخیر کشف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از گیاهان را نشان می‌دهد. استفاده از گونه‌ها و گیاهان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها در فرآیندهای غذایی، امیدی برای استفاده از آن‌ها به جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک است. گزارشات نشان می‌دهد که، با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مصرف آن‌ها به‌عنوان افزودنی‌های طبیعی افزایش یافته است (٤). در ایران پس از تعیین ترکیب شیمیایی روغن‌های اسانسی بخش‌های هوایی تیموس کارامانیکوس (*Thymus caramanicus*)، و اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای کل فنلی، بیشترین فعالیت رادیکال‌زدایی در فاز قطبی عصاره متانولی (IC_{50} = 43 µg/ml) دیده شده است (۵). گونه‌های آویشن به علت ویژگی‌های متعدد زیستی و فارماکولوژیکی به‌عنوان گیاهان دارویی محسوب می‌شوند (٦). نتایج مطالعات بسیاری که بر روی ترکیب روغن‌های اسانسی قسمت‌های هوایی گونه‌های مختلف آویشن در ایران انجام شده است نشان می‌دهد که ترکیبات فرار اصلی به‌دست آمده عبارتند از تیمول، کارواکرول، پارا-سیمین، گاما-ترپنین، β-کاریوفیلن و غیره (۹-۷). بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها و ترکیبات مهم به‌دست آمده از مراحل رویشی، گل‌دهی، جوانه‌زنی گل، دانه‌دهی تیموس کارامانیکوس (*Thymus caramanicus*) بر علیه هفت باکتری گرم مثبت و گرم منفی به‌وسیله‌ی روش انتشار در آگار و تعیین حداقل میزان ممانعت کنندگی نشان داده است که ناحیه‌ی ممانعت و کمترین غلظت بازدارندگی برای سویه‌های باکتریایی که به روغن اسانسی آویشن حساس بودند به‌ترتیب ۳٦mm-۱۵ و mg/ml ۱۵-۰/۵ می‌باشد. روغن‌های اسانسی به‌دست آمده فعالیت ضدباکتریایی خوبی علیه تمام باکتری‌های ذکر شده داشتند و باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*) و سودوموناس آئروژینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*) به‌ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها بودند (۱۰). روغن‌های اسانسی و عصاره‌های اکثر گونه‌های آویشن به‌طور گسترده در صنعت داروسازی، مواد آرایشی و خوشبو کننده‌ها و همچنین برای طعم‌دادن و محافظت انواع محصولات غذایی استفاده می‌شوند. همچنین این گونه‌ها به‌عنوان ضد نفخ، افزایش‌دهنده ادرار، ضدعفونی کننده دستگاه ادراری، و همچنین به‌عنوان کرم‌کش استفاده می‌شوند (۱۱). به‌علت ناپایداری و فرار بودن آنتی‌اکسیدان مصرفی در صنایع، سلامت و تاثیر این مواد دائما زیر سوال بوده است (۱۲). بنابراین بهره‌گیری از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با پتانسیل حفاظت انسان از آسیب‌های ایجاد شده به‌وسیله‌ی استرس‌های اکسی داتیو تشدید شده است (۱۳) و روغن‌های اسانسی سرشار از تیمول و کارواکرول با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی می‌توانند به این منظور مورد استفاده قرار گیرند (١٤). با توجه به گسترش

www.SID.ir

Archive of SID

مصرف فرآورده‌های گیاهان دارویی در کشورمان لازم است که جوانب مختلف این محصولات به جهت کاربردهای مفید و احیانا ضررهای آن‌ها در سلامتی انسان مورد توجه قرار گیرد. به‌دلیل بومی بودن گونه‌ی آویشن دنایی لازم است ابعاد مختلف بیولوژیکی آن برای اولین بار بررسی و گزارش شود. از این رو مطالعه‌ی حاضر طراحی گردید و اسانس آویشن دنایی مطالعه و با اسانس تجاری آویشن و ترکیب شیمیایی اصلی آن، تیمول، مقایسه گردید.

روش بررسی

اسانس آویشن دنایی: آویشن دنایی (*Thymus daenensis*) در موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع شناسایی و به روش تقطیر با آب با کمک دستگاه کلونجر به مدت سه ساعت، اسانس‌گیری شد. اسانس تجاری آویشن از منابع تولیدی داخل کشور که در داروخانه‌ها به فروش می‌رسد، تهیه گردید. تیمول از شرکت مرک آلمان بود که رقت‌های مختلف از محلول یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر آن تهیه شد. تعیین محتوای کل فنل Total Phenolic Content (TPC) با استفاده از روش Kahkonen و همکاران (۱۵) به شرح زیر سنجیده شد. ۳۰۰ میکرولیتر از نمونه در لوله‌ی آزمایش ریخته شده، ۱/۵ میلی‌لیتر Folin–Ciocalteau's Reagent (10x dilution) و ۱/۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد ریخته شده، به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده، جذب در ۷۶۵ نانو متر سنجیده شد. فنل کل بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید در هر ۱۰۰ گرم نمونه بیان شد ($y = 0.0111X - 0.0148$; $r^2 = 0.9998$). سنجش کلاتینگ یون فروس Ferrous Ion Chelating (FIC) Assay سولفات آهن (۲ میلی‌مول)(FeSO4) و فروزین (۵ میلی‌مول)(Ferrozine) تهیه و ۲۰ برابر رقیق شد. یک میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف نمونه‌های اسانس با یک میلی‌لیتر سولفات آهن رقیق شده مخلوط و سپس یک میلی‌لیتر فروزین رقیق اضافه گردید. لوله‌ها خوب مخلوط شده، ده دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. جذب هر کدام در ۵۶۲ نانومتر سنجیده شد (۱۶). قدرت کلاته کردن یون فروس هر نمونه به شرح زیر محاسبه شد:

$$\text{Chelating Effect}(\%)=[1-(A_{sample}/A_{control})] \times 100$$

تعیین خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس خواص آنتی‌اکسیدانی با روش‌های بتا کاروتین زدایی، تعیین قدرت رادیکال‌زدایی 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH)، سنجش قدرت احیای فریک (FRAP) و رادیکال‌زدایی سوپر اکساید آنیون با روش‌های استاندارد انجام شد.

روش بتاکاروتین‌زدایی: در روش بتاکاروتین‌زدایی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش توصیف شده به‌وسیله‌ی میرعلی اکبری و شهیدی (۱۷) با اصلاح جزیی استفاده شد. محلول استوک بتا-کاروتن و لینولئیک اسید با ۵٪ میلی‌گرم بتا-کاروتن در ۱ میلی‌لیتر کلروفرم، ۲۵ میکرولیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی‌گرم توئین ۴۰ آماده شد. و کلروفرم در خلا تبخیر شد و به آن۱۰۰ میلی‌لیتر از آب هوادهی شده اضافه شد. نمونه‌ها (۲ گرم/ لیتر) حل شد و۳۵۰ میکرولیتر از آن به ۵/۲ میلی‌لیتر از مخلوط بالا موجود در لوله‌ها افزوده شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۲ ساعت در حمام آب گرم با دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد همرا با دو تا بلانک گذاشته شدند. که یکی از آنها دارای آنتی‌اکسیدان Butylated Hydroxytoluene (BHT) به عنوان کنترل مثبت و دیگری حاوی دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) به جای اسانس به عنوان کنترل منفی بودند. لوله‌ی دارای BHT در طول انکوباسیون رنگ خودشان را حفظ کردند. جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها (درصد بازدارندگی) با استفاده از فرمول زیر به‌دست آمد.

$$I\%=(A_{\beta\text{-carotene after 2h assay}}/\ A_{\text{initial }\beta\text{-carotene}})\times 100$$

www.SID.ir

Archive of SID

$A_{\beta\text{carotene after 2 h assay}}$ جذب بتا-کاروتن بعد از ۲ساعت باقی ماندن در نمونه‌ها و $A_{\text{initial }\beta\text{-carotene}}$ و جذب بتاکاروتن در شروع آزمایشات می‌باشد. تمام تست‌ها سه بار تکرا شده، درصد ممانعت کنندگی با انحراف معیار سه‌تایی گزارش شد.

تعین فعالیت رادیکال‌زدایی با تست DPPH: ۱۰ میکرولیتر اسانس را با ۹۰۰ میکرولیتر (100mM Tris-HCl (pH 7.4؛ ۴۰ میکرولیتر اتانول و ۵۰ میکرولیتر TWEEN 20 (0.5% w/w) مخلوط کرده، مخلوط فوق به یک میکرولیتر DPPH (0.5 mM=0.2 mg/ml) در اتانول اضافه گردید. مخلوط را به شدت هم‌زده و جذب فورا با طول موج ۵۱۷ نانومتر ثبت گردید. ثبت تا ۷۰ دقیقه ادامه یافت و نوسانات یادداشت گردید تا جایی‌که دیگر نوسانی دیده نشد. برای شاهد به جای اسانس آب مقطر استفاده شد و ترولوکس [Trolox (1mM)] به عنوان آنتی‌اکسیدان پایدار استفاده شد. فعالیت رادیکال‌زدایی اسانس با فرمول زیر و بر اساس درصد بازدارندگی DPPH محاسبه گردید:

Inhibition percentage (IP)= $[(A_B - A_A)/A_B] \times 100$

A_B= Absorbance value of blank checked after 70 minutes

A_A= Absorbance value of sample checked after 70 minutes

سنجش قدرت احیای فریک (Ferric-reducing Ppower (FRAP) assay): یک میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف اسانس به ۲/۵ میلی‌لیتر بافر ۰/۲M فسفات پتاسیم با PH ٦/٦ و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری‌سیانید ۱ درصد اضافه شده و در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه انکوبه گردید. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به آن اضافه شد. این ترکیب به چند بخش ۲/۵ میلی‌لیتری تقسیم و با ۲/۵ میلی‌لیتر آب دی یونیزه مخلوط گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر $FeCl_3$ ۰/۱ درصد (وزن/حجم) به هر کدام اضافه شده، پس از ۳۰ دقیقه جذب در ۷۰۰ نانومتر سنجیده شد (١٦). FRAP به‌صورت معادل گالیک اسید (GAE) در میلی‌گرم در گرم نمونه محاسبه شد (y = 16.66x+0.0038; r2 = 0.999).

سنجش رادیکال‌زدایی سوپر اکساید آنیون (Superoxide anion radical scavenging) قدرت رادیکال‌زدایی سوپر اکساید آنیون اسانس‌ها با روش استاندارد (۱۸) انجام شد. به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های هر اسانس محلول زیر افزوده شد:

100 µl (30 mmol/l) Na_2EDTA, 100 µl (3 mmol/l) hypoxanthine in 50 mmol/l NaOH and 200 µl (1.42 mmol/l) nitroblue tetrazolium (NBT) in NaH_2PO_4–NaOH (50 mmol/l, pH 7.4).

پس از ۳ دقیقه مقدار ۱۰۰ میکرولیتر (0.5 U/ml) Xanthine Oxidase در بافر NaH_2PO_4–NaOH اضافه شده، ۲/۴ میلی‌لیتر بافر NaH_2PO_4–NaOH اضافه شد. محلول حاصل در دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شده، جذب در ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. همچنین جذب در ۲۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شد تا چنانچه اسانس مانع تولید اسید اوریک شده باشد، مشخص شود. وقتی که از عدم تشکیل اسید اوریک اطمینان حاصل شد، درصد ممانعت در ۵۶۰ نانومتر با فرمول زیر محاسبه می‌شود و نیز ارزش IC_{50} تعیین گردید.

$\text{Inhibition}(\%)=[(A_{control}-A_{sample})/ A_{control}] \times 100$

فعالیت ضد تیروسینازی اسانس‌ها (Tyrosinase Inhibition): فعالیت ممانعت تیروسینازی اسانس‌ها با روش اسپکتروفتومتری (۱۹) و با استفاده از روش Dopachrome با استفاده از L-DOPA به‌عنوان سوبسترا سنجیده شد. نتایج با یک کنترل و بلانک محتوی DMSO ۵۰ درصد (به‌جای نمونه) مقایسه شدند. Quercetin به‌عنوان شاهد مثبت استفاده شد. درصد مهار تیروسیناز با فرمول زیر محاسبه شد:

$\text{Tyrosinase inhibition}(\%)=[(A_{control}-A_{sample})/A_{control}]\times 100$

محاسبات آماری: تمام یافته‌ها به‌صورت میانگین حداقل سه بار تکرار با احتساب انحراف معیار (S.D. ±) تعیین گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

آنالیز آماری با Student's T-Test انجام شد و اختلاف معنی‌دار با P<۰/۰۵تعریف گردید. تعیین IC_{50} در محیط نرم‌افزار اکسل با استفاده از ترسیم خطی نمودار داده‌ها (XY Scatter) انجام گرفت.

یافته‌ها

توانایی رقت‌های مختلف اسانس‌ها در کلاتینگ یون‌فروس تعیین گردید و اسانس آویشن دنایی قدرت کلاتینگ کمتری نسبت به اسانس تجاری در کلاته کردن یون‌فروس داشت. قدرت کلاتینگ تیمول از هر دو اسانس کمتر بود. قدرت اسانس‌ها به مراتب از قدرت اتیلین دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) کمتر بود (جدول ۱). مقدار اسانس لازم برای ۵۰ درصد کلاتینگ یون فروس توسط اسانس آویشن دنایی، آویشن تجاری، تیمول و EDTA به‌ترتیب ۷۳۰، ۲۰۰، ۳۹۲۰ و ۰/۷۱ میکروگرم بود (جدول ۱).

جدول ۱: قدرت اسانس‌ها و تیمول در کلاتینگ یون‌فروس

اسانس آویشن دنایی	مقدار اسانس (µg)	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	IC_{50} (µg)
	درصد کلاته کردن یون فروس	۱۵/۱۴±۰/۵۶	۲۳/۷۶±۰/۶۶	۴۱/۰۶±۱/۸	۶۳/۲۸±۰/۲۱	۷۳۰
اسانس آویشن تجاری	مقدار اسانس (µg)	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	IC_{50} (µg)
	درصد کلاته کردن یون فروس	۴/۷±۰/۹	۳۱/۶±۰/۲۴	۶۵/۹۶±۳/۳	۶۷/۳۴±۱/۷	۲۰۰
تیمول	مقدار تیمول (µg)	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	IC_{50} (µg)
	درصد کلاته کردن یون فروس	۱/۱۳±۰/۷	۲/۱±۰/۲۲	۵/۶±۰/۷	۱۰/۵۲±۰/۹	۳۹۲۰
EDTA	مقدار EDTA (µg)	۰/۱۵	۰/۳	۰/۵	۱	IC_{50} (µg)
	درصد کلاته کردن یون فروس	۳۰/۸±۰/۹	۳۷/۳۵±۱/۷	۴۵/۲±۱/۲	۶۱/۵±۲/۹	۰/۷۱

جدول ۲: قدرت رادیکال‌زدایی سوپراکساید آنیون اسانس‌ها و تیمول

اسانس آویشن دنایی	مقدار اسانس (µg)	۲	۴	۸	۱۶	IC_{50} (µg)
	در صد رادیکال زدایی	۱۹/۰۲±۱/۹	۲۷/۷±۱/۵	۴۰/۶۷±۲/۴	۵۶/۴۵±۱/۱	۱۳
اسانس آویشن تجاری	مقدار اسانس (µg)	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	IC_{50} (µg)
	در صد رادیکال زدایی	۴۸/۲±۰/۳	۵۱/۴۳±۰/۰۶	۵۵/۱۶±۱/۶	۶۰/۷±۰/۹	۹۳
تیمول	مقدار اسانس (µg)	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰	IC_{50} (µg)
	در صد رادیکال زدایی	۱/۲±۰/۳	۲/۳±۰/۶	۵/۰۸±۰/۳	۶/۸±۰/۵	۱۵۳۷۰

فعالیت رادیکال‌زدایی سوپر اکساید آنیونی اسانس آویشن‌دنایی به‌مراتب از فعالیت اسانس آویشن تجاری و تیمول بیشتر و IC_{50} آن‌ها تعیین گردید (جدول ۲). خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس با روش بتا-کاروتن‌زدایی و نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

مقایسه‌ایی آن‌ها با آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک استاندارد در جدول ۳ نشان داده شده است. بازدارندگی پراکسیداسیون لیپید به‌وسیله‌ی اسانس آویشن دنایی بسیار قوی و توسط اسانس تجاری و تیمول بازای ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تقریبا یکسان با اندکی بیشتر در خصوص آویشن تجاری بود (جدول ۳). با توجه به‌اینکه رقت ۰/۰۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آویشن دنایی مورد آزمایش قرار گرفت، می‌توان اظهار داشت که درصد رادیکال‌زدایی DPPH به‌وسیله اسانس آویشن دنایی بسیار قوی و بیشتر از آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک مانند BHT، BHA (Butylated Hydroxyanisole) و ترولوکس بود. این بازدارندگی توسط تیمول بیشتر از اسانس آویشن تجاری به‌ازای ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. قدرت احیای فریک (FRAP) اسانس آویشن دنایی به‌مراتب بیش از اسانس آویشن تجاری و تیمول بود (جدول ۳).

جدول ۳: محتوای فنلی و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی اسانس‌ها وتیمول

اسانس	محتوای فنلی (µg/mg GAE)	قدرت احیای فریک (FRAP) معادل گالیک اسید (میلی‌گرم در گرم نمونه)	فعالیت آنتی اکسیدانی (٪) با روش بتا کاروتین (مقدار اسانس)	درصد بازدارندگی DPPH (مقدار اسانس)	IC_{50} (µg)
آویشن دنایی	٦٤٤/٠٧±٦/٧٩	١٧/٨١±٣/٧٧	٦٩/٣١±١/٧٢ (٠/٣١mg/ml)	٤٥/٤٣±٣/٨ (٠/٠٨mg/ml)	٥
آویشن تجاری	١٦/٩٤±٢/٥٥	٠/٢٣±٠/٠٩	٥٣/٢١±٦/٢٤ (١٠mg/ml)	٣٥/٠٨±٣/٥ (١٠mg/ml)	١٧
تیمول	١٠/٣٣±٢/٣١	٠/١٢±٠/٠٤	٤٧/١٣±٢/١ (١٠mg/ml)	٥١/٤±٣/٠٨ (١٠mg/ml)	٦٠٢
BHT 1mM				٣٥/٩±٠/٤٧	
BHA 1mM				٤٧/٧±٠/٥	
Trolox 1mM				٣٤/٥±٠/٤	

جدول ٤: در صد فعالیت ضد تیروسینازی اسانس‌ها وتیمول

اسانس	درصد فعالیت ضد تیروسینازی (مقدار اسانس)	IC_{50} (µg) در quercetin معادل هرگرم نمونه	درصد رادیکال زدایی سوپر اکساید آنیون (مقدار اسانس)	IC_{50} (µg)
آویشن دنایی	٢٩/٩±٠/٣٣ (٤µg)	٢٤	٥٦/٥±١/١ (١٥µg/ml)	١٣
آویشن تجاری	٤١/٩±٢/٤ (١٢٥µg)	٥١٦	٣٠/٧±٠/٩ (٥٠٠µg/ml)	٩٣
تیمول	٢٠/٨±١/٢ (٢٠٠٠µg)	٩٠٣٠	٦/٨٤±٠/٥ (٢٠٠٠µg/ml)	١٥٣٧٠

www.SID.ir

Archive of SID

فنل کل اسانس‌های آویشن دنـایی، اسـانس تجـاری و تیمـول به‌ترتیـب معـادل ۶/۷۹±۶۴۴/۰۷، ۲/۵۵±۱۶/۹۴، ۲/۳۱±۱۰/۳۳ میکروگرم گالیک اسید در هر میلی‌گـرم نمونـه تعیـین گردیـد (جـدول ۳). درصـد فعالیـت ضـد تیروسـینازی بـه‌ازای ۴ میکروگـرم اسـانس آویـشن دنـایی ۰/۳۳±۲۹/۹، بـه‌ازای ۱۲۵ میکروگرم اسانس آویـشن تجـاری ۲/۴±۴۱/۹ و بـه‌ازای ۲۰۰۰ میکروگرم تیمـول ۱/۲±۲۰/۸ بـود. مقـدار IC_{50} بـرای فعالیت ضد تیروسینازی اسانس‌های فوق و تیمول بـه ترتیـب ۲۴، ۵۱۶ و ۹۰۳۰ میکروگرم محاسبه شد (جدول ٤)

بحث

زمینـه‌ی تحقیقـات خـوبی پیرامـون ترکیبـات شـیمیایی و ویژگی‌های بیولوژیک روغن‌های اسانسی آویشن وجـود دارد. مطالعه‌ی مقالات نشان می‌دهد که اسانس آویشن دنایی تاکنون مورد مطالعه و بررسی قـرار نگرفتـه، ایـن اولـین گـزارش در خصوص خـواص بیولوژیـک آویـشن دنـایی اسـت. در ایـن مطالعه قدرت کلاتینـگ یـون فـروس اسـانس آویـشن دنـایی قـدرت کلاتینـگ کمتـری نـسبت بـه اسـانس تجـاری را در کلاته‌کردن یون فروس داشت. تحقیقات اخیر اکنون در جهـت یافتن آنتی‌اکسیدان‌هایی با منشا گیاهی هستند. قدرت کلاتینگ تیمـول از هـر دو اسـانس کمتـر بـود. قـدرت اسـانس‌هـا بـه مراتـب از قـدرت EDTA کمتـر بـود (جـدول ۱). در بـین فلزات، آهن به‌عنوان مهم‌ترین پرواکسیدان اکـسیداسیون لیپیـد به دلیل واکنش‌گری سریع شناخته شده است. آهـن بـه شـکل فروس اکسیداسیون لیپیـد را بـا شکـستن هیـدروژن پراکـسید و لیپیـد پـر اکـسیدهـا از طریـق واکـنش فنتـون [Fenton reaction $(Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + {}^{\bullet}OH + {}^{-}OH)$] تسریع می‌کند. یون Fe^{3+} همچنین از پراکسیدها رادیکال‌ها را تولید می‌کند. هر چند در این واکنش سرعت ده برابر کمتـر از یون Fe^{2+} است (۲۰). تولیـد ایـن رادیکـال‌هـا مـی‌توانـد بـه پراکسیداسیون لیپید، تغییرات پروتئینی و آسیب DNA منجـر شود. مواد کلاته کننده می‌توانند یـون‌هـای فلـزی را غیرفعـال ساخته، به‌طور بالقوه از فرآیندهای وابـسته بـه فلـز پیـشگیری نمایند (۲۱). در این مطالعه فعالیت کلاتینگ اسانس با سنجش فـروزین (ferrozine) تعیـین گردیـد (جـدول ۱). فـروزین به‌طور کمی می‌تواند کمپلکس‌هایی را با Fe^{2+} تـشکیل دهـد. در حضور سایر مواد کلاته کننـده، تـشکیل کمـپلکس مختـل می‌گردد و رنگ قرمز کمپلکس کاهش می‌یابد. سنجش میـزان کاهش رنـگ میـزان فعالیـت کلاتینـگ یـک کلاتـور موجـود هم‌زمان را نشان می‌دهد (۲۲). در این مطالعه واکنش کلاتینگ وابـسته بـه دوز بـود و مقـدار اسـانس لازم بـرای ۵۰ درصـد کلاتینگ یون فروس توسـط اسـانس آویـشن دنـایی، آویـشن تجاری، تیمول و EDTA به‌ترتیب ۷۳۰، ۲۰۰، ۳۹۲۰ و ۰/۷۱ میکروگرم بود (جدول ۱). اندازه‌گیری فعالیت آنتـی‌اکـسیدانی اسانس‌های حاصل از قسمت‌های هـوایی تیمـوس کاپیتـاتوس (*Thymus Capitatus* Hoff. et Link.) بـه‌وسـیله‌ی روش‌های فعالیت کلاته کردن فلزات، پتانسیل کاهشی، فعالیت رادیکال‌زدایی و مقایسه بـا آنتـی‌اکـسیدان‌هـای سـنتزی ماننـد BHA و BHT مشخص کرده است که آن‌ها فعالیـت کلاتـه کردن فلزات را نشان نمی‌دهند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی فنل‌هـا بیشتر به‌دلیل خواص ردوکس (Redox) آن‌هاست که به آن‌ها امکان عملکرد به‌عنوان مواد احیا کننده و اهدا کننده هیـدروژن را داده، نیز آنها پتانسیل کلاتـه کـردن فلـزات را دارنـد (۲۳). رادیکال‌زدایی سوپر اکساید آنیون اسانس‌ها (جـدول ۲) نـشان داد که اسانس آویشن‌دنایی دارای IC_{50} معادل ۱۳ میکروگـرم در برابر ۹۳ میکروگرم IC_{50} اسـانس آویـشن تجـاری اسـت (جدول ۴و۲). فنـل‌هـا و فلاونوئیـدهای گیـاهی بازدارنـدگی پراکسیداسیون لیپید را با فرونشانی رادیکـال‌هـای پروکـسی و احیا یا کلاته‌کردن آهن در آنزیم لیپوکسیژناز و نهایتاً ممانعـت از شروع واکنش پراکسیداسیون لیپیـد، انجـام مـی‌دهنـد (۲۴). فعالیت آنتی‌اکـسیدانی بـا روش بتاکـاروتین و قـدرت احیـای فریک اسانس‌ها نشان می‌دهد که آویشن‌دنایی با محتوای فنلی

www.SID.ir

Archive of SID

بالاتر، قوی‌تر از اسانس آویشن تجاری و تیمول است (جدول ۳). سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها با روش *DPPH*، نشان داد که قدرت رادیکال‌زدایی اسانس آویشن‌دنایی بسیار قوی و توسط اسانس تجاری و تیمول به‌ازای ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تقریبا یکسان با اندکی بیشتر در خصوص آویشن تجاری بوده، به‌مراتب بیشتر از آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک است (جدول ۳). طی آزمایشی پس از تعیین ترکیب شیمیایی روغن‌های اسانسی بخش‌های هوایی تیموس کارامانیکوس (*Thymus Caramanicus*)، و اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH و بتا کاروتن و محتوای کل فنلی، بیشترین فعالیت رادیکال‌زدایی در فاز قطبی عصاره‌ی متانولی (IC_{50} = 43 µg/ml) دیده شده است (۵). تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مربوط به توانایی زدودن رادیکال‌های پروکسی، رادیکال‌های آزاد DPPH، و رادیکال‌های هیدروکسی باشد (۲۵). نتایج نشان دهنده‌ی ارزش غذایی این گونه گیاهان به‌ویژه قابلیت تیمول که از ترکیبات اصلی آویشن است، در پیشگیری تشکیل محصولات سمی از راه نیتروژن واکنش‌گر (*RNS*) بوده‌اند (۲۷و ۲۶). یک بررسی نشان داده است فعالیت آنتی‌اکسیدانی اوگنول، تیمول، کارواکرول و ٤-آلیل فنل موجود در روغن‌های اسانسی برگ‌های تیموس ولگاریس (*Thymus Vulgaris*) نسبت به سایر ترکیبات تست شده قوی‌تر است به‌طوری‌که همه‌ی آن‌ها در مقدار ۵ میکروگرم به‌مدت ۳۰ روز تقریبا ۱۰۰ درصد از اکسیداسیون هگزانال جلوگیری کردند. به این ترتیب فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها قابل مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های مشهور مانند آلفا-توکوفرول و BHT می‌باشد (۲۸). در این مطالعه اسانس‌های آویشن از تیمول قوی‌تر عمل کردند که می‌تواند بیانگر قدرت هم‌افزایی ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها باشد. در حالت کلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌زدایی روغن‌های اسانسی مربوط به حضور ترکیبات فنلی بوده که قادر به دادن هیدروژن به رادیکال می‌باشد. گزارش‌های متعددی همبستگی خوب بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی که با روش فولین اندازه‌گیری شده بود، را نشان می‌دهد. تعداد زیادی از ترکیبات فنلی ساده همانند می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کند، با این وجود قدرت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها وابسته به‌برخی ساختارهای پیش نیاز، به‌ویژه تعداد و آرایش گروه‌های هیدروکسیل، میزان کنجوکاسیون ساختاری و حضور واحدهای دهنده و گیرنده‌ی الکترون در ساختار حلقه می‌باشد (۲۹). در این مطالعه آویشن‌دنایی دارای محتوای فنل کل ۳۸ برابر محتوای فنل کل اسانس آویشن تجاری بود (جدول ۳) و بنابراین روغن‌های اسانسی آویشن به‌عنوان ترکیب طبیعی نگهدارنده‌ی در صنعت غذایی قابل استفاده است (۳۰). بررسی فعالیت احتمالی آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های به‌دست آمده از گونه‌های تیموس پالسنس، تیموس درآتنسیس و تیموس آلجرینسیس (*Thymus algeriensis, Thymus pallescens and Thymus dréatensis*) با استفاده از چها ر روش ترکیبی به نام‌های فعالیت رادیکال‌زدایی (DPPH)، زدودن رادیکال هیدروکسیل، مهار پراکسیداسیون لیپید و قدرت احیا کنندگی، نشان‌گر فعالیت قوی زدودن رادیکال هیدروکسیل توسط دو کمو تیپ جدید از *T.Algeriensis* (IC_{50} = 2. 2–3. 3 µg/ml) بوده است، اما در مورد رادیکال‌های دیگر، فعالیت رادیکال‌زدایی ضعیف و یا صفر و قدرت احیا کنندگی نیز ضعیف بوده است. علیرغم تشابه شیمیایی اسانس‌های این‌گونه با تیموس پالسنس (*T. Pallescens*)گهگاهی تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای در فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده می‌شود (۳۱). عصاره‌ی اتانولی تیموس سرپیلوم (*Thymus Serpyllum*) خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی را با استفاده از روش بتا-کاروتن/لینولئیک اسید نشان داده است (۱۱). درصد فعالیت ضد تیروسینازی به‌ازای ۴ میکروگرم اسانس آویشن‌دنایی ۰/۳۳±۲۹/۹، به‌ازای ۱۲۵ میکروگرم اسانس آویشن تجاری ۲/۴±۴۱/۹ و به‌ازای

www.SID.ir

Archive of SID

۲۰۰۰ میکروگرم تیمول ۱/۲±۲۰/۸ بود. مقدار IC_{50} برای فعالیت ضد تیروسینازی اسانس‌های فوق و تیمول به‌ترتیب ۲۴، ۵۱۶ و ۹۰۳۰ میکروگرم محاسبه شد (جدول ٤). تابه‌حال گزارشی از تعیین فعالیت ضد تیروسینازی اسانس آویشن‌دنایی گزارش نشده است، بنابراین گزارش حاضر اولین گزارش در همین مورد است. فعالیت ضد تیروسینازی سایر اسانس‌ها مانند گیاهان *M. Gigantea, M. Pruinosa, M. Tanarius* و *M. Triloba* به‌ترتیب ۵۳/۹، ٦۱/۲، ۵۲/۸ و ۵۸ در صد گزارش شده (١٦) که در مقایسه با نتایج این مطالعه می‌توان به اهمیت اسانس آویشن‌دنایی در بازدارندگی تیروسیناز پی برد. باز دارنده‌های تیروسیناز آن دسته از مواد شیمیایی هستند که واکنش‌های شیمیایی مانند تیره شدن رنگ غذا یا پوست انسان (ملانیزاسیون) را احیا می‌کنند و بنابراین دارای پتانسیل خوبی با دیدگاه صنعتی هستند. در مجموع مطالعه‌ی خواص بیولوژیک اسانس آویشن‌دنایی نشان می‌دهد که قابلیت خوبی برای بررسی کاربرد آن در صنعت غذا و دارو دارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد که با تامین هزینه‌های این طرح امکان عملی‌شدن آن را فراهم آوردند، اعلام می‌داریم.

References

1- Oke F, Aslim B, Ozturk S, Altundag S. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of Satureja cuneifolia Ten. *Food Chemistry*. 2009; 112: 874-9.

2- Aruoma IO. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. J *Am Chem Soc*.1998; 75: 199-212.

3- Shahidi F, Wanasundara PK. Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1992; 32: 67-103.

4- Lindberg Madsen H, Bertelsen G. Spices as antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*. 1995; 6: 271-7.

5- Safaei-Ghomi J, Ebrahimabadi AH, Djafari-Bidgoli Z, Batooli H. GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of thymus caramanicus Jalas and its main constituent carvacrol. *Food Chem.* 2009; 115: 1524-8.

6- Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA, Daferera D, Polissiou M, Sokmen A. Antioxidative activity of the essential oils of thymus sipyleus subsp. sipyleus var. sipyleus and thymus sipyleus subsp. sipyleus var. rosulans. *J Food Eng.* 2005; 66: 447-54.

7- Rustaiyan A, Masoudi S, Monfared A, et al. Volatile constituents of three thymus species grown wild in Iran. *Planta Med.* 2000; 66: 197-8.

8- Sefidkon F, Dabiri M, Rahimi-Bidgoly A. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of thymus kotschyanus Boiss. and Hohen. *Flavour Fragrance J.* 1999; 14: 405-8.

9- Sefidkon F, Jamzad Z, Yavari-Behrouz R, Shargh DN. Essential oil composition of thymus kotschyanus boiss and hohen from Iran. *J Essent Oil Res.* 1999; 11: 459-60.

10- Nejad Ebrahimi S, Hadian J, Mirjalili MH, Sonboli A, Yousefzadi M. Essential oil

www.SID.ir

Archive of SID

composition and antibacterial activity of thymus caramanicus at different phenological stages. *Food Chemistry*. 2008; 110: 927-31.

11- Mata AT, Proena C, Ferreira AR, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, Arajo MEM. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem.* 2007; 103: 778-86.

12- Sokmen A, Gulluce M, Akpulat HA, et al. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic thymus spathulifolius. *Food Control*. 2004; 15: 627-34.

13- Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2005; 45: 287-306.

14- Dapkevicius A, Venskutonis R, Van Beek TA, Linssen JPH. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J Sci Food Agric*. 1998; 77: 140-6.

15- Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem.* 1999; 47: 3954-62.

16- Lim TY, Lim YY, Yule CM. Evaluation of antioxidant, antibacterial and anti-tyrosinase activities of four macaranga species. *Food Chem.* 2009; 114: 594-9.

17- Miraliakbari H, Shahidi F. Antioxidant activity of minor components of tree nut oils. *Food Chem.* 2008; 111: 421-7.

18- Lee JC, Kim HR, Kim J, Jang YS. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *opuntia ficus-indica* var saboten. *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 6490-6.

19- Chan EWC, Lim YY, Wong LF, et al. Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. *Food Chem.* 2008; 109: 477-83.

20- Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS LETT.* 1996; 384: 240-2.

21- Finefrock AE, Bush AI, Doraiswamy PM. Current status of metals as therapeutic targets in Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc.* 2003; 51: 1143-8.

22- Yamaguchi F, Ariga T, Yoshimura Y, Nakazawa H. Antioxidative and anti-glycation activity of garcinol from *Garcinia indica* fruit rind. *J Agric Food Chem.* 2000; 48: 180-5.

23- Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res.* 1995; 22: 375-83.

24- Torel J, Cillard J, Cillard P. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry*. 1986; 25: 383-5.

25- Singh G, Marimuthu P, Murali HS, Bawa AS. Antioxidative and antibacterial potentials of essential oils and extracts isolated from various spice materials. *J Food Safety*. 2005; 25: 130-45.

www.SID.ir

Archive of SID

26- Cavar S, Maksimovic M, Solic ME, Jerkovic-Mujkic A, Besta R. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two satureja essential oils. *Food Chem.* 2008; 111: 648-53.

27- Prieto JM, Iacopini P, Cioni P, Chericoni S. In vitro activity of the essential oils of origanum *vulgare, satureja montana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes. *Food Chemistry.* 2007; 104: 889-95.

28- Lee SJ, Umano K, Shibamoto T, Lee KG. Identification of volatile components in basil *(ocimum basilicum L.)* and thyme leaves *(thymus vulgaris L.)* and their antioxidant properties. *Food Chem.* 2005; 91: 131-7.

29- Miliauskas G, Van Beek TA, De Waard P, Venskutonis RP, Sudholter EJR. Identification of radical scavenging compounds in Rhaponticum carthamoides by means of LC-DAD-SPE-NMR. *J Nat Prod.* 2005; 68: 168-72.

30- Curtis OF, Shetty K, Cassagnol G, Peleg M. Comparison of the inhibitory and lethal effects of synthetic versions of plant metabolites (anethole, carvacrol, eugenol, and thymol) on a food spoilage yeast *(debaromyces hansenii). Food Biotechnol.* 1996; 10: 55-73.

31- Hazzit M, Baaliouamer A, Verissimo AR, Faleiro ML, Miguel MG. Chemical composition and biological activities of *Algerian thymus oils. Food Chem.* 2009; 116: 714-21.

www.SID.ir

Archive of SID

Comparison of Ferrous Ion Chelating, Free Radical Scavenging and Anti Tyrosinase Properties of Thymus Daenensis Essential Oil with Commercial Thyme Oil and Thymol

Dadashpour M[1], Rasooli I[2], Sefidkon F[3], Taghizadeh M[4], Darvish Alipour Astaneh SH[5]

[1]College of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

[2]Dept. of Biology, College of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

[3]Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

[4]Dept. of Chemistry, College of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

[5]College of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Rasooli I, Dept. of Biology, College of Basic Sciences, Shahed University, Tehran-Iran.

E-mail: rasooli@shahed.ac.ir

Received: 28 Nov 2010 **Accepted:** 14 Mar 2011

Background and Objective: Utilization of plants as antioxidants in food processing has a potential for substitution of synthetic antioxidants. In the present work, some unexplored biological activities of *Thymus daenensis*, commercial *thyme* essential oils and thymol were comparatively studied.

Materials and Methods: Ferrous ion chelating was assessed by spectrophotometry by mixing the essential oils with diluted $FeSO_4$ followed by addition of ferrozine. Antioxidative properties were assessed by beta carotene bleaching and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging tests. Gallic acid equivalent of ferric reduction was carried out using $FeCl_3$. Super oxide anion radical scavenging was determined using xanthine oxidase and anti tyrosinase inhibitory activity was determined by a spectrophotometry method using a modified dopachrome method with L-DOPA as the substrate.

Results: Chelating reaction of *T. daenensis* oil was dose dependent, and its super oxide anion radical scavenging property was higher than the commercial oil. Lipid peroxidation inhibition by *T. daenensis* oil was stronger and those of the commercial oil and thymol were approximately equal. DPPH free radical scavenging property of *T. daenensis* oil was higher than trolox, butylated hydroxytoluene and anisol (BHT and BHA). Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) of *T. daenensis* oil was greater. The total phenolics anti tyrosinase IC_{50} were also determined.

Conclusion: The results point to the nutritional value of these plants in preventing formation of toxic reactive oxygen species, and show that Thymus daenensis, as a good antioxidant, can directly scavenge free radicals. The results from biological properties of Thymus daenensis are indicative of its potentials for use in food and drug industries.

Keywords: Chelating, Antioxidant, Super oxide anion radical scavenging, Antityrosinase, Essential oils, Thymus

www.SID.ir